

## Toxiciteit van twee mariene alg toxinen voor larven van de mossel en het pekelkreeftje (*Toxicity of two marine algal toxins to blue mussel and brine shrimp larvae*)

De Rijcke Maarten

Laboratorium voor Milieutoxicologie en Aquatische Ecologie, Vakgroep Toegepaste ecologie en milieubiologie, Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, Universiteit Gent

Volgens de meest recente toekomstprojectie van de Verenigde Naties zal het globale bevolkingsaantal tegen het eind van deze eeuw 10 miljard overschrijden. Deze aangroei, alsook de stijgende welvaart van bepaalde ontwikkelingslanden, stuwt de toenemende mondiale vraag naar dierlijke producten. Conventionele visserij kan die vraag niet beantwoorden gezien het grote aantal maximaal en overgeëxploiteerde visbestanden. Daarentegen nam de globale aquacultuurproductie substantieel toe gedurende het laatste decennium. Met een jaarlijkse aangroei van 8 à 10% is aquacultuur de sterkst groeiende vleesproducerende sector ter wereld. Momenteel brengt deze industrie jaarlijks meer dan 50 miljoen ton visproducten voort en lost daarmee ongeveer de helft van de jaarlijkse vraag in.

De aquacultuurindustrie wordt echter geconfronteerd met de veranderingen en uitdagingen van de 21e eeuw. Mariene ecosystemen worden bedreigd door o.a. klimaatsverandering, overbevissing, vervuiling, eutrofiëring, fysieke destructie van habitat en invasieve soorten. Diezelfde factoren liggen aan de bron van het toenemende voorkomen van schadelijke algenbloei. Daarnaast produceren sommige microalgen toxinen die via biomagnificatie doorheen de voedselketen ernstige gezondheidsrisico's inhouden voor zowel mens als dier. Twee van deze fycotoxinen, domoizuur en okadazuur, worden respectievelijk geproduceerd door diatomeeën en dinoflagellaten. Beide kunnen na het consumeren van besmette organismen schelpdiervergiftiging veroorzaken bij de mens. Het relatief frequente voorkomen van deze aandoening bevestigt dat schadelijke algenbloei voorkomt in de productieve gebieden van de aquacultuur.

Naarmate de omvang van de aquacultuur toeneemt, dient de sector in toenemende mate te kunnen rekenen op de beschikbaarheid van hoge kwaliteitslarven. Er is echter weinig informatie beschikbaar omtrent de mogelijke effecten van deze fycotoxinen op de larvicultuur van commercieel belangrijke soorten. Dit onderzoek beoogt daarom deze beperkte kennis uit te breiden voor de mossel *Mytilus edulis* en het pekelkreeftje *Artemia franciscana*. Concreet lag de nadruk op de ontwikkeling en overleving van de larven gedurende de eerste 48 uur. Daarnaast werden effecten op de aangeboren immuunrespons van deze organismes eveneens onderzocht. Dit werd bestudeerd aan de hand van de fenoloxidase-activiteit die instaat voor de melanisatie van lichaamsvreemde deeltjes.

Hiertoe werden stockoplossingen van domoizuur en okadazuur aangekocht. Vanuit deze stocks werden realistische omgevingsconcentratiereeksen verdund. Daarnaast werden twee toxische microalgen in cultuur gebracht. Vanwege zijn vermogen om domoizuur te produceren werd de diatomee *Pseudo-nitzschia multiseries* geteeld. Daarnaast werd de dinoflagellaat *Prorocentrum lima* gecultiveerd omdat deze okadazuur in het medium brengt. Vanuit deze culturen werden eveneens blootstellingsexperimenten opgezet waarbij een reeks van natuurlijk voorkomende celdensiteiten werd gebruikt.

*Artemia* larven werden bekomen door het ontluiken van de ruststadia onder axenische omstandigheden. Glazen flesjes werden gevuld met 10ml ASTM artificieel zeewater waaraan 10 nauplii en de diverse behandelingen werden toegevoegd. Incubatie gebeurde afgeschermd van het licht gedurende 48 uur bij 28°C. Na 24 en 48 uur werd de mortaliteit in elk flesje gekwantificeerd. Adulte mosselen werden bemonsterd van de Belgische kust. Na acclimatisatie werden deze in vitro tot reproductie gebracht. Diverse behandelingen met toxinen of algen werden voorbereid in ASTM artificieel zeewater. Replicaten van 2ml van elke oplossing werden samen met 180 embryo's in een multiwell geplaatst. De multiwell platen werden eveneens gedurende 48 uur geïncubeerd bij 15°C in het donker. Na twee dagen werden alle larven afgedood middels toevoeging van 46µl formaldehyde en werd de larvale ontwikkeling beschouwd. Op basis van de embryonale schelp werden larven hiervoor ingedeeld in verschillende categorieën.

Daarnaast werden eveneens grotere opstellingen uitgewerkt. In deze werden grote aantallen larven van beide soorten blootgesteld aan zowel het toxine als de levende algen. Deze experimenten

produceerden voldoende cellulair materiaal voor een eiwitextractie. Aan het bekomen eiwitextract werd vervolgens L-DOPA toegevoegd. Het aanwezige fenoloxidase in dit extract kan dit L-3,4-dihydroxy-phenylalanine omzetten in het fotometrisch detecteerbare dopamine. Door de optische dichtheid van dopamine te kwantificeren gedurende 72 uur was het mogelijk de gewijzigde immuunrespons van beide soorten te vergelijken.

Op basis van onze resultaten konden we geen nefaste effecten van domoizuur en okadazuur op de larven van de mossel *Mytilus edulis* en het pekelkreeftje *Artemia franciscana* rapporteren. Zelfs bij concentraties die de gerapporteerde waarden van de natuurlijke omgeving ruim overschrijden werden geen acute effecten gedetecteerd. Verder werden eveneens geen negatieve effecten gevonden in aanwezigheid van *Pseudo-nitzschia multiseries*. De dinoflagellaat *Prorocentrum lima* veroorzaakte, zoals verwacht uit de literatuur, echter wel hoge mortaliteit onder de larven van *A. franciscana*. Gezien de tolerantie voor hoge dosissen okadazuur is het achterliggende mechanisme hiervan nog onbekend. Daarnaast bleek de fenoloxidase activiteit van *A. franciscana* nauplii te reduceren in aanwezigheid van domoizuur. Dit resultaat was in strijd met een voorgaande studie waaruit bleek dat domoizuur mogelijks een beschermende werking had tegen bacteriële infecties. Tenslotte leek domoizuur een positieve invloed te hebben op de larvale ontwikkeling van *M. edulis*. Deze drie opmerkelijke observaties zijn nu onderworpen aan verder onderzoek.